Lane Medical Library

Über das Verhalten der Plazenta bei cholesteringespeicherten Kaninchen

UNIVERSITY LIBRARY STANFORD OCT 27 1930

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

einer

Hohen medizinischen Fakultät

der

Universität Kiel

vorgelegt von

Dr. phil. Godo Löhr

aus Elberfeld

Kiel 1926

VERLAG VON S. HIRZEL IN LEIPZIG C 1

Referent Geh.-Rat Prof. Dr. Jores

zum Druck genehmigt gez. Prof. Zimmermann

Dekan

Gleichzeitig erschienen in Zeitschrift „Krankheitsforschung", Bd. VI, Heft 5

Über das Verhalten der Plazenta bei cholesteringespeicherten Kaninchen

Von

Godo Löhr

Mit 2 Abbildungen im Text

Die pathologischen Erscheinungen, die bei Herbivoren nach Verfütterung von Cholesterin auftreten, sind von zahlreichen Autoren (*Anitschkow, Chalatow, Chuma, Versé, Schöheimer* u. a.) besonders am Kaninchen eingehend studiert worden. Merkwürdigerweise hat aber das Verhalten der Plazenta in diesem Zusammenhang nur geringe Beachtung gefunden, und doch bietet eine Untersuchung in dieser Richtung mancherlei Interessantes. Wir studierten das morphologische Verhalten der Plazenta bei cholesteringespeicherten Kaninchen unter dem biologischen Gesichtspunkt, ob sie die Fähigkeit besitzt, den embryonalen Organismus vor den Folgen der Cholesterinüberschwemmung zu schützen, indem sie gleichsam als Filter ein schädliches Übermaß dieses Stoffes zurückhält.

Es wird hiermit die Frage berührt, wie sich überhaupt der Cholesterinstoffwechsel einerseits des Fötus, andererseits derjenige des graviden Muttertieres verhält. Bekannt ist die Tatsache, daß physiologischerweise während der Gravidität bei Mensch und Tier das mütterliche Blut eine Erhöhung des Cholesterinspiegels aufweist, deren Bedeutung vermutlich darin zu erblicken ist, daß dem Cholesterin entgiftende Eigenschaften gegenüber toxischen, vom Fötus herrührenden Stoffen zuerkannt werden müssen. Der wachsende Organismus andererseits braucht das Cholesterin zum Aufbau

seiner Organe und Gewebe, denn sämtliche Zellen des Körpers enthalten ebenso wie das Blutserum Cholesterin bzw. seine Ester als lebenswichtigen Bestandteil. Ob dieses zur Anbildung organischer Substanz benötigte Cholesterin dem Fötus als solches von der Mutter her durch die Plazenta zugeführt wird oder wenigstens in vollem Ausmaße geliefert wird, erscheint nach neueren Untersuchungen von *Thannhauser* am bebrüteten Hühnerei, von *Beumer* am Säugling zweifelhaft. Hiernach kann jedenfalls als feststehend angesehen werden, daß eine Cholesterinsynthese im kindlichen Organismus möglich ist.

Welche Rolle spielt nun das plazentare Gewebe für die Regulierung des Übertritts verschiedenartiger Substanzen zum fötalen Organismus, speziell der Lipoide? Nach den Untersuchungen von *Kosta, Oshima* und *Hofbauer* ist es wahrscheinlich, daß beim Kaninchen ein Übertritt von Fett zum Fötus stattfindet. Eine besondere Bedeutung messen diese Autoren dem Epithel der Chorionzotten bei. Vielleicht wird vor der Resorption das Fett gespalten und später im Fötus wieder aufgebaut. Denn nach Fütterung von gefärbtem Fett wurden im Gegensatz zu den mütterlichen Bluträumen im Chorionepithel und im Fötus ungefärbte Fetttröpfchen festgestellt. Nach Verfütterung von Kokosfett fand *Hofbauer* im fötalen Blut Laurinsäure. *Oshima* glaubt auf Grund seiner Untersuchungen folgern zu können, daß die Chorionepithelien nicht ohne weiteres für ultramikroskopische Teilchen durchlässig sind. Einen weiteren Hinweis zur Orientierung über die Funktion des plazentaren Gewebes bieten die zahlreichen Versuche mit den verschiedensten Pharmaka und sonstigen chemischen Stoffen. Für die ersteren läßt sich keine bestimmte Gesetzmäßigkeit aufstellen: die einen passieren die Plazenta ungehindert, die anderen werden abgefangen. (Vgl. die Untersuchungen von *Kreidl* und *Mandl* und *Shimidzu.*) Nach *Cunningham* setzt die Katzenplazenta dem Übertritt von im Übermaß zugeführten Eisensalzen einen großen Widerstand entgegen. Gleichsinnig sind die an trächtigen Kaninchen mit Ferr. sach. oxyd. unternommenen Versuche von *Richter.* Weitere Experimente mit ähnlichem Ergebnis stellte *Hofbauer* an. *Zuntz* gibt über die älteren in dieser Richtung unternommenen Untersuchungen einen Überblick. Besonders interessante Resultate lieferten die Versuche mit vitalinjizierten Farbstoffen. *Zaretzky* fand bei trächtigen Mäusen, *Wisloki* in ähnlicher Weise bei graviden Katzen nach Injektion von Trypanblau die ektodermalen Chorionepithelien mit dem Farbstoff angefüllt, keine Spur davon in dem Fötus. *Schlecht* kam bei der Verwendung von Lithionkarmin als Farbstoff zu einem gleichen Ergebnis bei trächtigen weißen Mäusen. Nach diesem Autor umgeben die Chorionepithelien wie ein Schutzwall den kindlichen Organismus. *Schlecht* wie auch *Goldmann,* der Pyrrholblau zur Anwendung

brachte, sehen in der starken Farbstoffspeicherung der Chorionepithelien einen deutlichen Beweis dafür, daß diese Zellen in den Stoffaustausch zwischen mütterlichem und kindlichem Organismus aktiv eingreifen.

Über das Verhalten der Kaninchenplazenta bei einem Überangebot von Cholesterin hat bereits *Schönheimer* (allerdings nur im Rahmen eines Teilbefundes) in einer umfassenden Arbeit über die Cholesterinkrankheit der Kaninchen berichtet. Dieser Autor beschreibt das mikroskopische Bild dreier Plazenten eines cholesteringespeicherten Tieres, das nach 28tägiger Gravidität abortierte. Die zugehörigen Föten konnten nicht mit untersucht werden, da das Tier diese offenbar gefressen hatte. Außerdem war die vollständige Untersuchung aller Plazentarschichten bei einem durch Abort gewonnenen Material nicht möglich. *Schönheimer* gibt an, daß sich im fötalen Teil der Plazenta, speziell in den Chorionepithelien, besonders viel doppelbrechende Lipoide fanden.

Diesen Befund nachzuprüfen und zu erweitern unter dem zu Anfang gegebenen Gesichtspunkt sollte unsere Aufgabe sein. Wir bedienten uns folgender Methodik:

Die im Versuch stehenden Tiere erhielten täglich $^1/_2$ g Cholesterin, nach dem Vorgang von *Schönheimer* in 5 ccm Oleum arach. heiß gelöst und nach dem Erkalten der Lösung bis auf Körpertemperatur mittels einer mit einem gebogenen Hartgummiaufsatz versehenen Klistierspritze dem Tiere in die Mundhöhle gebracht (*Rohrschneider*). Nach der Tötung der Tiere wurde das Material in 10%iger Formalinlösung fixiert. Ein zu langes (monatelanges) Verweilen in dieser Lösung erwies sich als ungünstig, da offenbar die gespeicherten Lipoide unter der Einwirkung des Formalins irgendwie beeinflußt, wahrscheinlich sogar teilweise gelöst wurden, so daß sie der histochemischen Untersuchung unzugänglich wurden. Da der Cholesterin- von dem Fettstoffwechsel nicht zu trennen ist, untersuchten wir das mikroskopische Material vergleichend mit verschiedenen Färbemethoden. Es gelangten zur Anwendung: 1. Hämatoxylin-eosin, 2. Scharlachrot, 3. Nilblausulfat, 4. Färbung nach *Smith-Dietrich* und 5. Färbung nach *Fischler*. Außerdem verwandten wir die *Schultz*sche Cholesterinreaktion und das Polarisationsmikroskop.

Bevor wir unsere Befunde wiedergeben, sei in Kürze der komplizierte mikroskopische Bau der normalen Kaninchenplazenta skizziert. Wir stützten uns bei der mikroskopisch-anatomischen Orientierung in der Hauptsache auf die Arbeiten von *Minot* und ganz besonders von *Maximow*. Danach haben wir in der Kaninchenplazenta drei Schichten zu unterscheiden:

1. die mütterliche Plazenta, die aber an ausgestoßenen Plazenten nur unvollkommen einer Untersuchung zugänglich ist;

2. die Intermediärschicht und
3. die fötale Plazenta.

Die Entwicklung der Kaninchenplazenta geht nach der Eieinbettung etwa folgenden Weg: Die Kapillaren der Mukosa im Bereich des Plazentarwulstes vergrößern sich. Das Gefäßendothel wuchert, so daß man in diesem Stadium in den Endothelzellen viele Mitosen erkennen kann. Um das Endothel herum entwickeln sich Gefäßscheiden aus dem lockeren Bindegewebe der Mukosa. Diese Bindegewebszellen nehmen bläschenförmige Gestalt an und stehen durch Zellfortsätze miteinander in Verbindung. In die intrazellularen Räume wird Glykogen als homogen aussehende, helle Substanz gespeichert. Diese eben beschriebenen Gefäßscheiden nehmen mit fortschreitender Gravidität an Dicke zu, so daß sich die Scheiden der benachbarten Gefäße berühren. Für die Bildung der Gefäßscheiden wird das ganze Bindegewebe der Mukosa verwandt. Weiter der Oberfläche zu sind die Zwischenräume zwischen den an sich zahlreicheren, aber kleineren Gefäßen weiter. Diese Zwischenräume sind von einer ebenfalls aus dem Mukosabindegewebe entstandenen feinfaserigen Masse erfüllt, die nach *Maximow* den Zweck haben soll, das Eindringen von embryonalem Gewebe zu erleichtern. Sowohl das oberflächliche wie das Drüsenepithel des Uterus erleidet im Bezirk des sogenannten Plazentarwulstes tiefgreifende Veränderungen. Das embryonale Gewebe findet bei seinem Einwuchern in die mütterlichen Zellverbände keinen großen Widerstand. Das embryonale Ektoderm gelangt in unmittelbare Nachbarschaft der von glykogenproduzierenden Zellen umkleideten Gefäße und übt nach *Maximow* einen Reiz auf diese Zellen aus, so daß sie sich stark vergrößern und sich teilweise in mehrkernige Zellgebilde umwandeln. In den vielkernigen Glykogenzellen, die einer vorgeschrittenen Entwicklungsperiode der Plazenta angehören, finden sich neben Glykogen feinste Fetttröpfchen in mehr oder minder großer Zahl. Bei diesem Bildungsweg von der einkernigen, gefäßumkleideten Zelle zu den vorher beschriebenen vielkernigen Glykogenzellen wird die Gefäßwand aufgelockert, das mütterliche Blut tritt in die interzellularen Räume und kommt so zum erstenmal mit dem fötalen Ektoderm in Berührung, das sich seinerseits an diesen Stellen zu einem Plasmodium differenziert. Der Prozeß des Einwachsens vom fötalen Gewebe nimmt mit der Zeit zu. Es kommt zur Ausbildung der Primordialzotten, die von einem gut gegliederten Zytoblast bekleidet sind. Mit dem Eindringen der Primordialzotten nimmt das Plasmodium an Umfang zu, so daß es schließlich die Wandungen der früheren Gefäße begrenzt; außerdem bilden sich in dem Plasmodium neue Hohlräume zur Aufnahme von mütterlichem Blut. Vom zehnten Schwangerschaftstage an werden den Primordialzotten von der Allantois aus Blutgefäße zugeführt: die Pri-

mordialzotten werden zu echten Chorionzotten. Nunmehr ist die Entwicklung so weit vorgeschritten, daß man die zu Anfang dieses Abschnittes gegebene Dreiteilung in der Plazenta deutlich erkennen kann. Die Placenta foetalis oder Ektoplazenta besteht aus einem System parallel verlaufender Chorionzotten, die namentlich auf dem Höhepunkt dieses Stadiums von einem deutlich erkennbaren ektodermalen Epithel bekleidet sind. Zwischen den Zotten befindet sich ein Plasmodium, in dessen Lücken, durch kernhaltige Stränge voneinander abgegrenzt, sich das mütterliche Blut sammelt. Die Zwischen- oder Intermediärschicht zeichnet sich durch ein besonders buntes mikroskopisches Bild aus, da hier fötale und mütterliche Zellelemente miteinander in engste Berührung kommen. Das embryonale verdrängt langsam das mütterliche glykogenhaltige Gewebe. Man sieht deutlich Inseln von Glykogenzellen, die von fötalen Zellsträngen umklammert sind. Diese Inseln sind nach *Maximow* für die Intermediärschicht charakteristisch. Die Glykogenzellen trifft man in allen Stadien der Entwicklung. Ihre Zahl nimmt gegen Ende der Gravidität ab, sie verfallen degenerativen Prozessen, als deren äußeres Zeichen das Auftreten von feinsten Fetttröpfchen angesehen werden darf. In der Intermediärschicht stößt man auf die verschiedensten Zellformen, so daß die Entscheidung über ihren Ursprung oft nicht leicht fällt. Die Placenta materna ist durch eine große Zahl der verästelten Bluträume gekennzeichnet, die sich aus den Kapillaren der Mukosa entwickelt haben. Diese erweiterten Gefäße sind von Gefäßschichten aus gut erhaltenen Glykogenzellen umkleidet.

Unser Material erstreckte sich auf den Uterusinhalt dreier gravider Kaninchen, die verschieden lange unter Cholesterinfütterung standen. Ein normales Tier diente zur Kontrolle. Die mikroskopische Untersuchung der Plazenta ergab folgende Befunde:

Kontrolltier, während der Gravidität getötet. Fötenlänge: 9 cm.

a) Färbung mit Scharlachrot: Einige schwielenartige Herde in der Uterusmuskulatur mit rot gefärbten Tröpfchen. In den entarteten glykogenhaltigen Zellen der Intermediärschicht eine feintropfige, an einzelnen Stellen eine grobtropfige Fettablagerung, besonders um die mütterlichen Gefäße herum. Die Uferzellen der Gefäße fötalen Ursprungs sind vereinzelt mit Fett beladen. An der Grenze zwischen Intermediärschicht und Placenta foetalis ein Saum fötaler und mütterlicher Zellen, die sich mit Scharlachrot gefärbt haben. In der Placenta foetalis geringe feintropfige Fettablagerung in den Zellen des Plasmodiums, besonders in der Umgebung mütterlicher Bluträume. Fötale Kapillaren fettfrei.

b) Nilblausulfatfärbung: Die Anordnung der Zellen, in denen Fetttröpfchen sich angefärbt haben, entspricht derjenigen im Scharlachrotschnitt. Hervorzuheben ist, daß im Bereich der entarteten glykogenhaltigen Zellen die Fettstoffe sich vorwiegend in violettem bis rötlichem Farbton färben, während in der Intermediärzone ausschließlich tiefblaue Färbung anzutreffen ist.

c) *Fischler*-Färbung: In der Intermediärschicht einzelne Zellen nahe dem Lumen mütterlicher Gefäße blau gefärbt.

d) *Smith-Dietrich*-Färbung: In den schwielenähnlichen Herden der Uterusmuskulatur positiver Ausfall der Färbung, ferner an der Grenze zwischen erhaltenen und entarteten glykogenhaltigen Zellen, außerdem in einem ringförmigen Bezirk um die mütterlichen Gefäße. Blau gefärbte Einlagerungen in ektodermalen Zellen an der Grenze zwischen Pl. foet. und Intermediärschicht, an vereinzelten Stellen im Plasmodium der Pl. foet.

e) und f) *Schultz*sche Reaktion und Untersuchung mit dem Polarisationsmikroskop: negativ.

Cholesterinkaninchen I

Die Cholesterinzufuhr begann schon während bestehender Gravidität. Nach 14 Tagen Spontanabort. Fötenlänge: 7,5 cm. Plazenten gut erhalten.

a) Färbung mit Scharlachrot: Fetthaltige Zellen in einem schmalen Saum an der Grenze zwischen erhaltenen und entarteten glykogenhaltigen Zellen. Innerhalb der entarteten glykogenhaltigen Zellen diffuse feintropfige Verfettung. Kernformen in diesen Zellen schwer zu erkennen. Dichte Fettspeicherung in entarteten glykogenhaltigen Zellen, die an die ektodermalen Zellen der mütterlichen Bluträume angrenzen; die ektodermalen Zellen selbst im großen und ganzen fettfrei; mit Lipoiden beladen sehen wir sie nur in einem Saume an der Grenze zwischen Intermediärschicht und Plac. foet. In der Plac. foet. geringe feintropfige Verfettung in dem zwischen den Zotten liegenden synzytialen Gewebe. Einzelne Endothelzellen der Zottenkapillaren haben Fett aufgenommen. In den mütterlichen Bluträumen scharlachrot gefärbte Substanzen.

b) Nilblausulfatfärbung: Die Fetttröpfchen im Bereich der entarteten glykogenhaltigen Zellen färben sich violett, in den übrigen Anteilen der Plazenta tiefblau.

c) *Fischler*-Färbung: In sämtlichen Schichten zeigen die bei den vorangehenden Färbungen dargestellten Fetttröpfchen eine schwärzliche Anfärbung.

d) *Smith-Dietrich*-Färbung: In der Intermediärschicht dunkelblauer Saum an der Grenze von entarteten und erhaltenen Glykogenzellen. Deutlich gefärbt sind einwachsende ektodermale Zellstränge. Kranzförmige Anordnung der gefärbten Zellen um die mütterlichen Gefäße. Die entarteten glykogenhaltigen Zellen zeigen nur feine blaue Tröpfchen. In der Plac. foet. eine allgemeine Verbreitung von blau gefärbten Tröpfchen im synzytialen Gewebe, besonders in der Umgebung der Gefäße.

e) *Schultz*sche Methode: Deutlich positives Ergebnis in dem synzytialen Gewebe der Plac. foet. Nach 15—20 Minuten erreicht die Reaktion ihr Optimum. Fötale Zottenkapillaren frei von Cholesterin. In der Intermediärschicht nur geringe Cholesterinmengen, hauptsächlich in den ektodermalen Zellen nahe der Plac. foet.

f) Polarisationsmethode: Doppelbrechende Substanzen erkennbar in Gebieten, die mit dem *Schultz*schen Reagens ein positives Ergebnis liefern.

Cholesterinkaninchen II

Fütterungsdauer: 3 Monate. Belegung: 28. I. 26. Tötung: 2. III. 26. Fötuslänge: 2 cm. Das mikroskopische Material lieferte besonders übersichtliche Bilder, da bei der früh unterbrochenen Gravidität die Unterscheidung von mütterlichen und fötalen Zellen noch verhältnismäßig einfach war.

a) Scharlachrotfärbung: Auffallend ist die Rotfärbung des Plasmas der die Uterusmuskulatur durchziehenden Gefäße. Muskulatur fettfrei. Die gut erhaltenen Gly-

Abb. 1. Starke Cholesterinspeicherung in der Plazenta foetalis eines 3 Monate lang mit Cholesterinöl gefütterten Kaninchens. Fötenlänge 2 cm. Cholesterinreaktion nach *Schultz*. (Die dunkelgrauen Gewebspartien heben sich im Originalpräparat leuchtend blaugrün von blaß-gelblichem Grunde ab)

kogenzellen nahezu frei von Fett. Nur in der Umgebung, besonders der kleinen Gefäße, finden sich in diesen Zellen Fettsubstanzen. In den wenigen entarteten glykogenhaltigen Zellen, besonders in der Nachbarschaft der eindringenden ektodermalen Stränge, eine feintropfige Fettansammlung. Ein Saum stark gefärbter ektodermaler Zellen an der Grenze zwischen Intermediärschicht und Plac. foet. Die ganze Plac. foet. erscheint schon bei Lupenbetrachtung rot. Fettspeicherung in feinen Tropfen im synzytialen Gewebe, besonders in der Umgebung mütterlicher Bluträume, deren Plasma teilweise rot gefärbt ist. Fötale Kapillaren frei von Fett. Gelegentlich haben endotheliale Zellen, welche die Kapillaren begrenzen, Fett gespeichert.

b) Nilblausulfatfärbung: Anordnung der gefärbten Tröpfchen im wesentlichen entsprechend derjenigen, wie wir sie bei den scharlachrot gefärbten Substanzen beschrieben. Auffallend sind die violettrötlichen Farbtöne in der Plac. foet.

c) *Fischler*-Färbung: Negativ. Als Nebenbefund sei erwähnt die Blaufärbung der im mesometralen Gewebe liegenden Fettzellen.

d) *Smith-Dietrich*-Färbung: In der Intermediärschicht blau gefärbte Tröpfchen in entarteten glykogenhaltigen Zellen und besonders deutlich in fötalen Zellelementen an der Grenze der Plac. foet. Charakteristisch ist auch hier die Anordnung der gefärbten Teilchen um die Gefäße herum. Das Synzytium der Plac. foet. enthält reichlich blaue Tröpfchen, besonders in der Nachbarschaft der Intermediärschicht.

e) *Schultz*sche Methode: In der Intermediärschicht wenig Cholesterin, hier hauptsächlich in den ektodermalen Zellen. Die Plac. foet. ist in ihrer ganzen Ausdehnung mit Cholesterin reichlich beladen, am deutlichsten in der Umgebung der mütterlichen Bluträume (vgl. Abb. 1 und 2). Fötale Kapillaren sind frei von Cholesterin.

f) Polarisationsmethode: Doppelbrechung ist erkennbar an denselben Stellen,

Abb. 2. Dieselbe Plazenta wie in Abb. 1 bei stärkerer Vergrößerung

die nach der *Schultz*schen Methode Blaufärbung zeigten. Liegt das Cholesterin aber in feiner Verteilung vor, so versagt die Polarisationsmethode, während der mikrochemische Nachweis nach *Schultz* auch hier noch gelingt und morphologisch sehr gut verwertbare Bilder gibt.

Cholesterinkaninchen III

Fütterungsdauer: 7 Monate. Belegtermin: 7. VI. 26. Tötung: 1. VII. 26. Fötenlänge: 5,7 cm. Das Tier hatte während der Fütterungszeit zwei ausgetragene Würfe, die sich normal weiterentwickelten.

a) Scharlachrotfärbung: Die Uterusmuskulatur ist im großen und ganzen fettfrei. Einzelne histiozytäre Zellen des interstitiellen Bindegewebes haben sich mit Fett beladen; besonders in der Umgebung der Gefäße, deren Plasma merkwürdigerweise sich nicht mit Scharlachrot gefärbt hat. Die Schicht der erhaltenen Glykogenzellen ist, entsprechend der vorgeschrittenen Gravidität, nicht sehr breit, zeigt keine mit Scharlachrot gefärbten Substanzen. Dagegen haben die mütterlichen Zellen in der Übergangszone von dieser Schicht zu dem ausgebreiteten Gebiet der degenerierenden dezidualen Zellen sich intensiv beladen, so daß wir in dem Präparat an dieser Stelle einen roten Saum finden. In den einwachsenden fötalen Strängen sieht man ebenfalls eine reichliche Fettablagerung. Die entarteten glykogenhaltigen Zellen haben eine mehr feintropfige Verteilung des Fettes in wechselndem Maße. Auch in diesem Präparat kann man die schon an den Plazenten der anderen Tiere festgestellte Beobachtungen machen, daß sich das Fett in deutlich erkennbarer Weise um die mütterlichen Gefäße, besonders in der Nähe der Plac. foet., ablagert. Die Speicherung der ektodermalen Uferzellen ist nur an einem Teil der in diesem Gebiet liegenden Gefäße zu beobachten. Inmitten des Gebietes der degenerierenden Gly-

kogenzellen finden sich Inseln von erhaltenen, die teilweise von ektodermalen Zellen umklammert sind. In diesen erhaltenen mütterlichen Zellen zeigt sich eine mit starker Vergrößerung erkennbare, nicht sehr reichliche Verfettung. Je näher man bei der Untersuchung der Plac. foet. kommt, um so häufiger begegnet man Strängen und Gruppen von ektodermalen Zellen, die massenhaft Lipoide gespeichert haben. Ferner sehen wir am Rande von Partien mit degenerierenden Glykogenzellen eine reichlichere Fettablagerung. Man stößt auf Bilder, die der Verfettung am Rande anämischer Infarkte sehr ähnlich sind.

Bei der Betrachtung der Plac. foet. fällt eine unregelmäßige Verteilung der mit Scharlachrot gefärbten Substanzen auf im Gegensatz zu dem Befund am entsprechenden Präparat von Kaninchen I und II. In feintropfiger Form finden wir diese Substanzen über die ganze Plac. foet. hin verteilt. Wir haben hier das gleiche, nur noch deutlichere Bild, wie wir es bei Kaninchen II beschrieben. Auffallend heben sich von diesen Teilen einer mehr diffusen feintropfigen Fettverteilung Gebiete ab, die mit lipoiden Substanzen geradezu überschwemmt sind. Diese Gebiete sind von den oben beschriebenen Partien mit feinerer Fettverteilung ziemlich scharf abgegrenzt. Bei der Betrachtung mit der Lupe heben sie sich infarktähnlich ab. Bei genauerer Durchmusterung dieser „Infarkte" sieht man das Fett in mehr grobtropfiger Form innerhalb der Plasmodiumzellen und auch der die fötalen Gefäße auskleidenden Zellen. Aber auch in diesen Gebieten scheinen die fötalen Gefäße selbst kein Fett zu enthalten. Wiederum machten wir die Beobachtung, daß sich das Fett in den die mütterlichen Bluträume begrenzenden Zellen besonders intensiv sammelt.

b) Nilblausulfatfärbung: In der Uterusmuskulatur sind die histiozytären Zellen, die bei der Beschreibung des Scharlachrotpräparates als fettspeichernd erwähnt wurden, mit dunkelblau gefärbten Tröpfchen beladen. Die Muskulatur und die Schicht der erhaltenen Glykogenzellen ist davon frei. Sobald wir bei der Untersuchung in die Teile der Intermediärzone, in der degenerierende Glykogenzellen auftreten, vordringen, finden wir allenthalben auch schon mit schwacher Vergrößerung erkennbare dunkelblaue und violettrötliche Tröpfchen, deren Anordnung der Lokalisation der mit Scharlachrot gefärbten Substanzen entspricht. Das ganze synzytiale Gewebe der Plac. foet. ist mit denselben blau gefärbten Tröpfchen reichlich versehen in einer den mit Scharlachrot gefärbten Substanzen entsprechenden Anordnung. Die im vorigen Präparat erwähnten infarktähnlichen Herde stärkster Verfettung innerhalb des Zottensynzytiums fallen durch ihre ausgesprochen rötlichviolette Färbung auf.

c) *Fischler*-Färbung: Die *Fischler*sche Färbung läßt in der Intermediärschicht an einzelnen Stellen ein positives Ergebnis erkennen. Jedenfalls ist das Auftreten von blau gefärbten Teilchen nicht allgemein über die ganze Intermediärschicht verbreitet; wir finden sie in der Umgebung von mütterlichen Bluträumen teilweise in ektodermalen, spärlich auch in dezidualen Zellen. Etwas reichlicher ist ihr Auftreten in den Teilen der Plac. foet., die dem Fötus zugekehrt sind. Hier sind es besonders die Uferzellen der größeren Gefäße.

d) *Smith-Dietrich*-Färbung: Bei der Betrachtung des Schnittes mit schwacher Vergrößerung fällt in der Intermediärschicht die stark dunkelblaue Färbung der ektodermalen Stränge und Zellverbände auf. Bei einer genauen Musterung sieht man auch eine positive Farbreaktion in dem Teil der Intermediärschicht, der vornehmlich degenerierende Glykogenzellen aufweist. Diese enthalten die blau gefärbten Teilchen jedoch in feiner Form. Eine intensivere Färbung an degenerierenden dezidualen Zellen nimmt man am Rande jener Bezirke wahr, die als infarktähnlich geschildert wurden. Einen Saum intensiv schwarzblau gefärbter mütterlicher Zellen sieht man dort, wo die degenerierenden Glykogenzellen mit den der Uteruswand zunächst liegenden erhaltenen Glykogenzellen in Berührung kommen. Auffallend ist ferner die stark positive Farbreaktion der die mütter-

lichen Zellinseln umgrenzenden fötalen Zellen. Die gleiche Färbung zeigen die fötalen Zellen, welche die mütterlichen Gefäße nahe der Placenta foet. umkleiden. In den Gefäßen ist keine Spur von blauen Farbtönen anzutreffen.

Besonders auffallend ist an diesem Schnitt die reiche Anhäufung blau gefärbter Tröpfchen in der Placenta foet., wobei hervorzuheben ist, daß die dem Fötus zugewandten Teile des Zottensynzytiums erheblich schwächer gespeichert haben als die der Intermediärschicht benachbarten Abschnitte. Die mehrfach erwähnten, scharf abgegrenzten infarktartigen Herde fallen auch hier durch enorm starke Anhäufung von Fetttröpfchen auf. Die kindlichen Bluträume sind frei. Beim Vergleich der mit der *Smith-Dietrich*-Methode erhaltenen Farbnuancen in der Intermediärschicht und der Placenta foet. läßt sich feststellen, daß die mütterlichen Zellelemente, soweit sie überhaupt eine positive Farbreaktion geben, eine tiefblaue und die fötalen Gewebe namentlich in der Plac. foet. eine mehr graublaue Färbung angenommen haben.

e) *Schultz*sche Methode: Nach dieser Methode erhalten wir in der Intermediärschicht keinen sehr reichlichen Befund. Man sieht in den mütterlichen degenerierenden Glykogenzellen eine positive Reaktion in einzelnen Partien, hauptsächlich nach der Plac. foet. hin. Auch in den erhaltenen mütterlichen Zellen, welche die inselförmigen degenerierenden Glykogenzellen umgeben, finden sich grünlich gefärbte Tröpfchen. Einen ähnlichen Befund kann man an dezidualen Zellen ohne Zeichen einer Degeneration erheben, die von ektodermalen Zellen umsäumt werden. Sehr auffällig ist das positive Ergebnis der *Schultz*schen Reaktion im Gebiet der Plac. foet., deren Gewebe sich intensiv grün färbt. Die Farbtöne schwanken zwischen Hell- und Tiefdunkelgrün. Stärkste Färbung finden wir in den infarktähnlichen Bezirken. Entsprechend dem *Smith-Dietrich*-Präparat ist die Farbreaktion am fötalen Rande der Plazenta schwächer ausgeprägt als in den der Intermediärschicht angrenzenden Partien. Grün gefärbte Einschlüsse zeigen auch endotheliale, die fötalen Kapillaren auskleidenden Zellen. Die fötalen Blutwege der Plazenta erweisen sich als frei von Cholesterin.

Bei einem genauen Studium der Farbnuancen in der Plac. foet. und in der Intermediärschicht fällt die mehr schmutzig graugrüne Färbung der Tröpfchen in den mütterlichen Glykogenzellen auf im Gegensatz zu den prachtvoll leuchtenden Farben, die man in dem Gewebe der Plac. foet. antrifft.

f) Polarisationsmethode: Im großen und ganzen gilt von der Untersuchung der vorliegenden Präparate mit dem Polarisationsmikroskop das gleiche, was bei der Betrachtung des Materials von Versuchstier II gesagt wurde: Für den Nachweis feiner verteilten Cholesterins und vor allem für morphologische Studien über die feinere Lokalisation liefert die *Schultz*sche Methode weit bessere Resultate.

Ergebnisse

Einer zusammenfassenden Besprechung unseres mikroskopischen Materials seien einige biologische Betrachtungen vorausgeschickt. *Schönheimer* gewann das untersuchte Plazentamaterial durch Abort eines Tieres. Die Ursache für die vorzeitige Unterbrechung der Gravidität sieht er in einer Verdickung des die mütterlichen Bluträume bekleidenden ektodermalen Plasmodiums. Die Richtigkeit dieser Vermutung können wir auf Grund unserer Beobachtung nicht völlig bestätigen. Von unseren Versuchstieren abortierte nur Kaninchen I, bei dem die Cholesterinfütterung

in einem vorgeschrittenen Stadium der Schwangerschaft einsetzte. Offenbar konnte sich der Organismus nicht mehr auf die veränderten Verhältnisse des Lipoidstoffwechsels umstellen. Die anderen Tiere verhielten sich hinsichtlich des Fortpflanzungsgeschäfts bis zur Tötung ganz normal. Hier setzte allerdings die Fütterung vor dem Beginn der Gravidität ein. Kaninchen III hatte während der 7monatlichen Fütterung mehrere normale Würfe, die sich ohne Störung weiterentwickelten. In den mikroskopischen Bildern der abortierten Plazenta sahen wir kein besonderes morphologisches Merkmal als Ursache für die Unterbrechung der Gravidität.

Bedeutend ist der Unterschied zwischen dem vom Normaltier und den cholesteringefütterten Tieren gewonnenen Material. Dieser Unterschied macht sich an den mit Scharlachrot gefärbten Schnitten auf den ersten Blick bemerkbar, indem die Plazenten aller gefütterten Tiere eine starke Zunahme der Fettsubstanzen erkennen ließen, besonders in der Ektoplazenta, in der sich unter normalen Verhältnissen nur eine geringfügige feintropfige Fettansammlung findet.

Die Anordnung der mit Scharlachrot gefärbten Teilchen im Gewebe ist folgende: Wir fanden die Uterusmuskulatur im großen und ganzen frei von Farbstoff. Bei dem vom Versuchstier II gewonnenen Material fiel uns eine Färbung des Plasmas in den die Uteruswand durchziehenden Gefäße auf. In der Intermediärschicht sahen wir eine feintropfige Lipoidansammlung in den entarteten glykogenhaltigen Zellen, ein Befund, der auch in normalen Plazenten zu erheben ist. Eine deutliche Speicherung von Fettsubstanzen wiesen die mütterlichen Zellen in der Umgebung der Blutgefäße auf; die Uferzellen selbst aber waren nur teilweise an der Speicherung beteiligt. War bei der Beurteilung der Intermediärschicht die Abgrenzung der normalen Verhältnisse von Veränderungen, wie sie durch die Fütterung bedingt sind, nicht ganz leicht, so hatten wir in dieser Beziehung weit weniger Schwierigkeiten bei Betrachtung der Plac. foet. Hier sind unter Normalbedingungen, wie oben schon erwähnt, fettartige Substanzen nur in spärlicher Menge anzutreffen. Die Speicherung der mit Scharlachrot gefärbten Substanzen bei den cholesteringefütterten Tieren hatte in dem synzytialen Gewebe stattgefunden, das die mütterlichen Bluträume umgibt. Desgleichen sahen wir eine mitunter sehr starke Ansammlung dieser Substanzen in den die Chorionzotten bekleidenden Zellen. Die mütterlichen Bluträume enthielten teilweise ebenfalls fettartige Stoffe. Die fötalen Kapillaren dagegen erwiesen sich in unseren Präparaten stets frei von Lipoiden.

Gab uns die Färbung mit Scharlachrot keinen Anhalt über die Beteiligung des mit der Nahrung zugeführten Cholesterins am plazentaren Stoffwechsel, so brachte uns hier die Polarisationsmethode, besonders aber

die *Schultz*sche Reaktion weiter[1]). Wir sahen keine Spur von Cholesterin in der Plazenta des Normaltieres. Aber schon das plazentare Gewebe des nur 14 Tage unter Cholesterinfütterung stehenden Kaninchens gab mit der *Schultz*schen Reagens einen deutlich positiven Befund. Das Cholesterin war hauptsächlich in den der Intermediärschicht zugekehrten Teilen der Ektoplazenta und in den fötalen Zellen der Zwischenzone lokalisiert. Grün gefärbte Einschlüsse trafen wir ferner im synzytialen Gewebe zwischen den Zotten und auch in den endothelialen Zellen, die die fötalen Kapillaren begrenzen. Die Kapillaren selbst enthielten kein nachweisbares Cholesterin. Die entarteten glykogenhaltigen Zellen der Intermediärschicht ließen bei dem von Kaninchen III gewonnenen Material eine schwach positive Reaktion mit dem *Schultz*schen Gemisch erkennen. Die in diesen Gewebsteilen hervorgerufene Farbreaktion zeigte aber nicht die schönen grünen und blaugrünen Farbtöne, wie wir sie in der Placenta foet. antrafen, sondern mehr graugrüne und bräunlichgrüne Töne. Offenbar ist hier das Cholesterin nur in geringem Maße an der Farbreaktion beteiligt.

Bei allen Versuchstieren wurden auch die Föten in mikroskopischen Schnitten auf ihren Cholesteringehalt geprüft. Wir konnten aber keine Vermehrung (bzw. abnorme Lokalisation) dieses Stoffes im fötalen Gewebe feststellen, wie sie der starken Anreicherung in den Plazenten entsprochen hätte. Diesen Befund bestätigt ja auch die Tatsache, daß das Kaninchen III während 7monatiger Fütterungszeit zwei vollkommen normale Würfe zur Welt brachte. Die mit anderen Fettfärbemethoden gewonnenen Bilder wiesen ebenfalls keine Abweichungen im Vergleich zu normalen Föten auf, so daß angenommen werden kann, daß ebensowenig wie das Cholesterin andere Fettstoffe in vermehrtem Maße durch die Plazenta in den kindlichen Organismus übertreten und somit auch nicht zur Ablagerung kommen.

Konnten wir an Hand unseres Materials über den Cholesteringehalt des plazentaren Gewebes bestimmte Feststellungen machen, so müssen wir uns hinsichtlich des Vorkommens der übrigen in der Plazenta auftretenden Lipoide zurückhaltend äußern, da nach *Kaufmann* und *Lehmann* die üblichen Färbemethoden zur Differenzierung von Fettgemischen nicht ohne weiteres geeignet sind.

---

[1]) Anmerkung: Nachdem anfänglich die Brauchbarkeit der Reaktion vor allem hinsichtlich ihrer Spezifität von *Arndt* und *Kimmelstiel* angezweifelt wurde, haben spätere Nachuntersuchungen gezeigt, daß der positive Ausfall der Reaktion — in dem Sinne, wie von *Schultz* und *Löhr* behauptet wurde — unbedingt als beweisend für die Anwesenheit von Cholesterin bzw. Cholesterinestern anzusehen ist (*Kaufmann* und *Lehmann*, *Laux*, *R. M. Mayer*). *Kimmelstiel* selbst hat kürzlich (vgl. Krankheitsforschung, 1927, Bd. 5, S. 403) auf Grund der letzten Mitteilung von *Schultz* und *Löhr* seine Einwände zurückgezogen.

Wir wiesen bei der Besprechung der nach *Smith-Dietrich* gefärbten Präparate besonders vom Versuchstier III auf die verschiedenen Farbnuancen in der Placenta foet. und in der Intermediärschicht hin: In der Plac. foet. fanden wir eine mehr graublaue Färbung. Einen derartigen Ausfall der Farbreaktion gibt nach den oben zitierten Autoren Cholesterin in der Verbindung mit Fettsäuren und Triglyzerid, ferner mit Ölsäure und Eiweiß; die mehr schwarzblaue Intermediärschicht möchten wir dagegen auf die gleichzeitige Anwesenheit von Phosphatiden, wie z. B. Lezithin, zurückführen. Wir sahen sie auch, wenngleich in vermindertem Maße, in den entarteten glykogenhaltigen Zellen der normalen Plazenta. Die Anordnung der nach *Smith-Dietrich* gefärbten Gebilde in der Placenta foetalis entsprach ungefähr der des Cholesterins. Dieser Befund zeigt, daß gleichzeitig mit dem Cholesterin andere lipoidartige Substanzen den Weg in die Placenta foet. gefunden haben. In der Intermediärzone fanden wir ferner nach *Smith-Dietrich* gefärbte Tröpfchen an Stellen, wo wir mit der *Schultz*schen Methode ein negatives Resultat erzielten, so z. B. an der Grenze zwischen erhaltenen und degenerierenden Glykogenzellen und in einem kranzförmigen Bezirk um die mütterlichen Gefäße herum. Es dürften hier also auch phosphatidartige Substanzen abgelagert sein.

Die Fettsäurefärbung nach *Fischler* gab besonders in den ektodermalen Zellen, die ringartig um die mütterlichen Gefäße der Intermediärzone herumliegen, eine positive Reaktion. Dies ließ sich aber auch schon an dem vom Normaltier gewonnenen Material erkennen. Diesem Befund mußte also wenig Bedeutung bei der Bewertung des durch die Cholesterinfütterung erzielten Effektes beigemessen werden. Erwähnt sei bloß, daß die Mischungen des Cholesterins mit Fettsäuren, die sich nach *Smith-Dietrich* blaugrün färben (s. oben), nach *Fischler* ein nur sehr undeutliches Färbeergebnis zeigen. Die beiden mit den verschiedenen Methoden erhobenen Befunde würden also übereinstimmen. Die Nilblausulfatfärbung ergab tiefblaue bis rötlichviolette Farbtöne. Vermißt wurde die für Anwesenheit reiner Triglyzeride verwertbare reine Rotfärbung.

Die Untersuchungen haben also gezeigt, daß die bei Kaninchen durch fortgesetzte alimentäre Cholesterinölzufuhr hervorgerufene „Cholesterinkrankheit" (*Schönheimer*) die Fortpflanzungsfähigkeit der weiblichen Tiere scheinbar durchaus nicht beeinträchtigt, da selbst nach monatelanger Cholesterinfütterung Schwangerschaft eintrat und ausgetragene, völlig normale Junge zur Welt gebracht wurden. Allerdings scheint eine gewisse Gewöhnung an die unphysiologische Ernährungsweise Voraussetzung hierfür zu sein; denn ein gravides Tier, bei dem die Cholesterinzufuhr etwa um die Mitte der Schwangerschaft einsetzte, reagierte bald darauf mit Abort unreifer Föten. Mit Ausnahme dieses einen Falles hat sich jedoch

gezeigt, daß trotz enormer Cholesterinspeicherung die Plazenta ihre Funktion voll erfüllen konnte. Sie hat gewissermaßen zwei Aufgaben in vollkommener Weise erfüllt: einmal wie ein Filter dem Fötus schädliche Stoffe zurückgehalten, andererseits ihm jedoch alle diejenigen Nährstoffe zukommen lassen, die er zum Aufbau benötigte. Die nach dem Eindruck der morphologischen Veränderungen naheliegende Annahme, daß infolge der starken Speicherung eine mit Herabsetzung der funktionellen Leistung verbundene „Blockierung" vorhanden sein müßte, trifft nicht zu.

Für Überlassung des Themas und vielseitige Unterstützung bei Anfertigung der Arbeit bin ich Herrn Privatdozent Dr. *A. Schultz* zu Dank verpflichtet.

Literatur

1. *Beumer*, Zit. nach *Hueck*, Verh. d. D. Path. Ges., 1925.
2. *Cunningham*, Amer. Journ. Phys., Bd. 53, S. 439.
3. *Goldmann*, Bruns Beitr., 1909, Bd. 64.
4. *Goldmann*, Bruns Beitr., 1912, Bd. 78.
5. *Hofbauer*, Arch. f. Gyn., Bd. 77, S. 1.
6. *Laux*, Zentralbl. f. Path., 1926, Bd. 38, S. 581.
7. *Kosta*, Zentralbl. f. Gyn., 1905, S. 250.
8. *Kreidl* und *Mandl*, Zentralbl. f. Physiol., 1903, S. 17.
9. *Kaufmann* und *Lehmann*, Zentralbl. f. Path., 1926, Bd. 37, S. 4.
10. *Kaufmann* und *Lehmann*, Virch. Arch., 1926, Bd. 261.
11. *Maximow*, Arch. f. mikr. Anat., 1898, Bd. 51.
12. *Mayer, R. M.*, Krankheitsforschung, 1928, Bd. 6, S. 48.
13. *Minot*, Biol. Zeitschr., 1890/91, Bd. 10.
14. *Oshima*, Zentralbl. f. Physiol., Bd. 21, S. 297.
15. *Rohrschneider*, Virch. Arch., 1925, Bd. 256, S. 139.
16. *Schlecht*, Ziegl. Beitr., 1907, Bd. 40.
17. *Schönheimer*, Virch. Arch., 1924, Bd. 249.
18. *Schultz, A.*, Zentralbl. f. Path., 1924, Bd. 35, S. 314.
19. *Schultz, A.*, Verh. d. Path. Ges., 1925.
20. *Schultz, A.* und *Löhr, G.*, Zentralbl. f. Path., 1925, Bd. 36, S. 529.
21. *Shimidzu*, Amer. Journ. Phys., Bd. 62, S. 202.
22. *Thannhauser*, Zit. nach *Hueck*, Verh. d. D. Path. Ges., 1925.
23. *Wislocki*, Zit. nach *Grosser* im Hdb. d. Biol. und Path. d. Weibes v. *Halban* u. *Seitz*.
24. *Zuntz*, Asher-Spiro, Erg. d. Phys., 1908.
25. *Zaretzky*, Ref. i. Jahrb. f. Gyn. u. Geb., 1910, S. 409.

Lebenslauf

Ich, *Godo Löhr*, preußischer Staatsangehörigkeit, bin geboren am 13. August 1901 zu Elberfeld als Sohn des Superintendenten *Wilhelm Löhr* und seiner Frau *Henriette* geb. *Steffe*. Nach Absolvierung des humanistischen Gymnasiums zu Elberfeld studierte ich im Sommersemester 1920 in Kiel, im Wintersemester 1920/21 in Bonn und dann vom Sommersemester 1921 bis zum Ende meines Studiums in Kiel Medizin. Von meinem dritten Semester an widmete ich mich außerdem dem Studium der Chemie. Ende Sommersemester 1922 bestand ich das Physikum, im Frühjahr 1923 bzw. 1924 die chemischen Verbandprüfungen. Im November 1925 promovierte ich zum Dr. phil., im Frühjahr 1926 legte ich das medizinische Staatsexamen ab, im November desselben Jahres das medizinische Doktorexamen.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren *Anschütz, Brandt, Bürger, Diels, Dieterici, Feist, Frey, Gross, Heine, Höber, Jores, Klingmüller, Konjetzny, Korff-Petersen, Löhr, von Möllendorff, Mumm, Rominger, Schittenhelm, Schröder, Siemerling, Schultz, Zimmermann.*

Druck von Grimme & Trömel in Leipzig